

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2026.07.014

论著 • 基础

SOX13 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路促进子宫内膜癌增殖和转移的作用机制

董雪, 乔娟, 斯琴, 郑菲

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2021MS08150)

作者单位: 010000 呼和浩特, 北京大学肿瘤医院内蒙古医院妇科肿瘤科

通信作者: 乔娟, E-mail: 78124421@qq.com



【摘要】 目的 研究性别决定区 Y-box 转录因子 13(SOX13)在子宫内膜癌(EC)中表达的临床意义,以及 SOX13 通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路促进 EC 细胞增殖和转移能力的作用机制。方法 收集 2017 年 1 月—2020 年 8 月北京大学肿瘤医院内蒙古医院妇科肿瘤科行手术治疗的 EC 患者 80 例。采用免疫组织化学(IHC)法检测 EC 组织中 SOX13 蛋白的表达,并分析 SOX13 表达与 EC 患者临床病理参数及预后的关系;构建 SOX13 敲减和过表达慢病毒,转染 EC 细胞,分为 shNC 组、shSOX13 组、oeNC 组、oeSOX13 组;CCK8 实验和平板克隆实验检测各组细胞增殖能力;Transwell 实验检测各组细胞转移能力;String 网站预测 SOX13 相互作用蛋白,GEPIA 数据库分析 SOX13 与 CTNNB1(β -catenin)在 EC 中表达的相关性;免疫共沉淀(Co-IP)检测 SOX13 与 β -catenin 相互作用;TOP/FOP Flash 荧光素酶报告基因检测各组细胞荧光素酶活性;Western-blot 检测各组细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白表达。结果 EC 患者癌组织中 SOX13 蛋白阳性表达率高于癌旁组织($\chi^2/P=6.602/0.010$);淋巴脉管间隙浸润(LVSI)、淋巴结转移、FIGO 分期 III~IV 期的 EC 患者中 SOX13 蛋白阳性表达率升高($\chi^2/P=4.089/0.043$ 、 $4.641/0.031$ 、 $8.225/0.004$);SOX13 阳性表达的 EC 患者预后较差($\chi^2/P=5.164/0.023$);SOX13 敲减转染 Ishikawa 细胞,过表达慢病毒转染 HEC-1-A 细胞,与 shNC 组比较,shSOX13 组细胞中 SOX13 蛋白表达降低,细胞增殖、平板克隆形成和转移能力降低($t/P=10.170/<0.001$ 、 $15.640/<0.001$ 、 $16.550/<0.001$ 、 $9.442/<0.001$);与 oeNC 组比较,oeSOX13 组细胞中 SOX13 蛋白表达升高,细胞增殖、平板克隆形成和转移能力增加($t/P=25.320/<0.001$ 、 $6.600/0.003$ 、 $28.130/<0.001$ 、 $17.830/<0.001$);数据库分析显示 SOX13 与 CTNNB1(β -catenin)相互作用,在 EC 中表达呈正相关($r/P=0.480/<0.001$);Co-IP 显示 SOX13 与 β -catenin 存在相互作用;与 shNC 组比较,shSOX13 组细胞中 TOP/FOP Flash 荧光素酶活性降低,细胞中核 β -catenin 蛋白及 cMyc、cyclinD1、N-cadherin 蛋白表达降低,E-cadherin 蛋白表达增加($t/P=11.770/<0.001$ 、 $41.830/<0.001$ 、 $37.200/<0.001$ 、 $23.000/<0.001$ 、 $21.620/<0.001$ 、 $26.840/<0.001$);与 oeNC 组比较,oeSOX13 组细胞中 TOP/FOP Flash 荧光素酶活性增加,细胞中核 β -catenin 蛋白及 cMyc、cyclinD1、N-cadherin 蛋白表达增加,E-cadherin 蛋白表达降低($t/P=23.970/<0.001$ 、 $16.620/<0.001$ 、 $27.650/<0.001$ 、 $31.140/<0.001$ 、 $30.000/<0.001$ 、 $29.440/<0.001$)。结论 SOX13 在 EC 中表达增加,与淋巴结转移、LVSI、FIGO 分期 III~IV 期及不良预后相关,并通过与 β -catenin 相互作用激活 Wnt/ β -catenin 信号通路增强 EC 细胞增殖和转移能力。

【关键词】 子宫内膜癌;性别决定区 Y-box 转录因子 13;增殖;转移;Wnt/ β -catenin 信号通路;作用机制**【中图分类号】** R737.33**【文献标识码】** A

Study on the mechanism of SOX13 activating Wnt/ β -catenin signaling pathway to promote proliferation and metastasis of endometrial cancer Dong Xue, Qiao Juan, Si Qin, Zheng Fei. Department of Gynecologic Oncology, Peking University Cancer Hospital Inner Mongolia Hospital, Inner Mongolia, Hohhot 010000, China

Corresponding author: Qiao Juan, E-mail: 78124421@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the clinical significance of sex-determining region Y-box transcription factor 13(SOX13) expression in endometrial carcinoma (EC) and the mechanism by which SOX13 promotes the proliferation and metastasis of EC cells through regulation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway. **Methods** A total of 80 patients with EC who underwent surgical resection in the Department of Gynecologic Oncology, Peking University Cancer Hospital Inner Mongolia Hospital from January 2017 to August 2020 were enrolled. The expression of SOX13 protein in EC tissues was detected by immunohistochemistry (IHC), and the relationship between SOX13 expression and clinicopathological parameters and

prognosis of EC patients was analyzed. SOX13 knockdown and overexpression lentiviruses were constructed and transfected into EC cells. Cells were divided into shNC group, shSOX13 group, oeNC group, and oeSOX13 group. CCK-8 assay and plate colony formation assay were used to detect cell proliferation. Transwell assay was used to detect cell metastasis. The STRING website was used to predict SOX13-interacting proteins, and the GEPIA database was used to analyze the correlation between SOX13 and CTNNB1 (β -catenin) expression in EC. Co-immunoprecipitation (Co-IP) was used to detect the interaction between SOX13 and β -catenin. TOP/FOP Flash luciferase reporter gene assay was used to detect luciferase activity. Western blot was used to detect the expression of Wnt/ β -catenin signaling pathway-related proteins. **Results** The positive expression rate of SOX13 protein in EC tissues was 51.25% (41/80), which was significantly higher than that in adjacent normal tissues (31.25%, 25/80) ($\chi^2/P=6.602/0.010$). SOX13 protein expression was increased in EC patients with lymph node metastasis, lymphovascular space invasion (LVSI), and advanced FIGO stage ($\chi^2/P=4.641/0.031$, $4.089/0.043$, $8.225/0.004$). EC patients with positive SOX13 expression had a poor prognosis ($\chi^2/P=5.164/0.023$). SOX13 knockdown was transfected into Ishikawa cells, and overexpression lentivirus was transfected into HEC-1-A cells. Compared with the shNC group, SOX13 protein expression was decreased in the shSOX13 group, and cell proliferation, plate colony formation, and metastasis were significantly reduced ($t/P=10.170/<0.001$, $15.640/<0.001$, $28.130/<0.001$, $9.442/<0.001$). Compared with the oeNC group, SOX13 protein expression was increased in the oeSOX13 group, and cell proliferation, plate colony formation, and metastasis were significantly increased ($t/P=25.320/<0.001$, $6.600/0.003$, $28.130/<0.001$, $17.830/<0.001$). Database analysis showed that SOX13 interacted with CTNNB1 (β -catenin) and was positively correlated with it in EC ($r/P=0.480/<0.001$). Co-IP confirmed the interaction between SOX13 and β -catenin. Compared with the shNC group, TOP/FOP Flash luciferase activity was decreased in the shSOX13 group ($t/P=11.770/<0.001$), and the expression of nuclear β -catenin, cMyc, cyclinD1, and N-cadherin proteins was decreased, while E-cadherin protein expression was increased ($t/P=41.830/<0.001$, $37.200/<0.001$, $23.000/<0.001$, $21.620/<0.001$, $26.840/<0.001$). Compared with the oeNC group, TOP/FOP Flash luciferase activity was increased in the oeSOX13 group ($t/P=23.970/<0.001$), and the expression of nuclear β -catenin, cMyc, cyclinD1, and N-cadherin proteins was increased, while E-cadherin protein expression was decreased ($t/P=16.620/<0.001$, $27.650/<0.001$, $31.140/<0.001$, $30.000/<0.001$). **Conclusion** SOX13 expression is increased in EC and is associated with lymph node metastasis, LVSI, advanced FIGO stage, and poor prognosis. SOX13 activates the Wnt/ β -catenin signaling pathway by interacting with β -catenin, thereby promoting the proliferation and metastasis of EC cells.

【Key words】 Endometrial cancer; Sex-determining region Y-box transcription factor 13; Proliferation; Metastasis; Wnt/ β -catenin signaling pathway; Mechanism

子宫内膜癌(endometrial cancer, EC)是全球最常见的妇科恶性肿瘤,且其发病率和病死率呈上升趋势^[1]。目前,EC的治疗手段对早期患者效果较好,但有10%~15%的EC患者确诊时已处于晚期,其可接受的治疗方法疗效有限,患者预后较差^[2]。性别决定区Y-box转录因子13(sex-determining region Y-box transcription factor 13, SOX13)基因位于人类染色体1q31.3-32.1上,编码一种84 kD的蛋白质,早期研究侧重于其在胚胎发育和组织分化中的作用^[3]。SOX13在乳腺癌、未分化甲状腺癌和肝细胞肝癌中高表达,并促进肿瘤发生发展^[4-6]。然而,SOX13在EC中的生物学功能尚不清楚。在乳腺癌中,SOX13通过调节TRIM11激活Wnt/ β -catenin信号通路,促进肿瘤细胞增殖和糖酵解,从而导致肿瘤的恶性进展^[7]。Wnt/ β -catenin信号通路的激活也是促使EC发生发展的重要肿瘤相关信号通路之一^[8]。本文对SOX13是否通过调控Wnt/ β -catenin信号通路在EC恶性进展中发

挥重要作用进行了研究,旨在获得SOX13作为EC预后生物标志物和潜在治疗靶点的实验室依据,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 组织与细胞:收集EC癌组织及癌旁组织石蜡标本80份(2017年1月—2020年8月北京大学肿瘤医院内蒙古医院妇科肿瘤科行手术切除具有完整临床病理信息的病例);人子宫内膜癌细胞系AN3-CA、HEC-1-A、HEC-1-B、RL95-2、Ishikawa购自美国ATCC细胞培养中心;人子宫内膜上皮细胞(hEECs)购自武汉普诺赛生命科技有限公司。(2) 试剂:胎牛血清、胰酶和DMEM培养基购自美国HyClone;免疫组织化学(IHC)相关试剂二甲苯及无水乙醇购自北京汇海科仪科技有限公司;IHC检测试剂盒、PVDF膜检测试剂盒和PARP裂解液、BCA蛋白浓度检测试剂盒购自美国Thermo公司;苏木素染色液和中性树胶购自北京索莱宝试剂公司;SOX13敲减和过

表达慢病毒购自广州派真生物技术有限公司; CCK8 试剂购自上海吉至生化科技有限公司; SOX13、 β -catenin、cMyc、cyclinD1、E-cadherin、N-cadherin、GAPDH 抗体购自英国 Abcam 公司; Transwell 小室购自美国 Corning 公司; TOP/FOP Flash 报告质粒、荧光素酶检测试剂盒和细胞核蛋白提取试剂盒购自上海碧云天试剂公司。(3) 仪器设备: 二氧化碳细胞培养箱(型号 371)和酶标仪(型号 51119800)均购自美国 Thermo 公司; 光学显微镜(型号 SZ51)和激光扫描共聚焦显微镜(型号 OLS5100)均购自日本 OLYMPUS 公司; WB 凝胶电泳仪(型号 Mini-PROTEAN Tetra+Mini Trans-Blot)购自美国 Bio-rad 公司。

1.2 观察指标与实验方法

1.2.1 免疫组织化学法检测癌组织 SOX13 表达: 取 EC 癌组织和癌旁组织石蜡切片(层厚 4 μ m), 切片经脱蜡、水化、抗原修复和血清封闭等一系列步骤后, 按照 IHC 检测试剂盒说明书, 将切片分别与 SOX13 一抗稀释液 4℃ 下孵育过夜、与二抗常温下孵育 1 h, 并在显色、苏木素染核、封片后进行染色评分。IHC 评分 = 染色强度(无着色、淡黄色、黄色、黄褐色, 分别计为 0、1、2、3 分) $\times$ 染色面积(无着色、<10%、10%~50%、51%~75%、76%~100%, 分别计为 0、1、2、3、4 分) 0~3 分表示 SOX13 阴性表达, 而 4~12 分表示 SOX13 阳性表达。

1.2.2 SOX13 慢病毒转染 EC 细胞: EC 细胞系 AN3 CA、HEC-1-B、RL95-2、HEC-1-A、Ishikawa 细胞、hEECs 复苏后均培养在 DMEM 培养基中, 并补充 10% 胎牛血清、100 mg/L 链霉素和 100 U/ml 青霉素, 置于温度为 37℃、二氧化碳浓度为 5% 的培养箱中培养。将 Ishikawa 细胞(2×10^5 个细胞/孔)接种至 6 孔板中, 分为 shNC 组和 shSOX13 组, 将 HEC-1-A 细胞(2×10^5 个细胞/孔)接种至 6 孔板中, 分为 oeNC 组和 oeSOX13 组。细胞培养过夜后, 采用 lip 2000 试剂进行转染, 按照说明书, 将敲减慢病毒阴性对照转染至 shNC 组细胞中, SOX13 敲减慢病毒转染至 shSOX13 组细胞, 将过表达慢病毒阴性对照转染至 oeNC 组细胞中, SOX13 过表达慢病毒转染至 oeSOX13 组细胞, 转染 12 h 后, 更换细胞培养基, 48 h 后各组细胞用于后续实验。

1.2.3 CCK8 和平板克隆实验检测 EC 细胞增殖能力: (1) CCK8 实验。将 shNC 组和 shSOX13 组、oeNC 组和 oeSOX13 组 Ishikawa 细胞(5×10^3 个细胞/孔)接种在 96 孔板中, 并在 0、24、48、72、96 h 时, 更换新鲜培养基, 并向每个孔中加入 CCK8 试剂 10 μ l, 混匀后在细胞培养箱中孵育 1 h, 采用酶标仪记录细胞的 490 nm 吸光度值。(2) 平板克隆实验。将 shNC 组和

shSOX13 组、oeNC 组和 oeSOX13 组 Ishikawa 细胞(200 个细胞/孔)接种在 6 孔板中, 观察培养基的颜色, 并及时更换新鲜培养基, 培养 2 周左右, 终止细胞培养。弃掉细胞培养基, PBS 清洗后加入甲醇固定细胞、苏木素染色、干燥后计数各组细胞肉眼可见的细胞克隆团形成数目。

1.2.4 Transwell 实验检测 EC 细胞转移能力: 将 shNC 组和 shSOX13 组、oeNC 组和 oeSOX13 组细胞(2×10^5 个细胞/孔)接种在 24 孔 Transwell 小室上室中, 细胞培养基为无血清培养基。底室中补充 10% FBS 的完整细胞培养基, 放置在细胞培养箱中孵育 24 h。将 Transwell 小室背面穿过的细胞用甲醇固定 30 min, 并在室温下用 0.1% 结晶紫染色 15 min。使用光学显微镜在高倍视野中($\times 200$)随机选择膜中心和边缘的 5 个视野计数各组细胞穿膜数目。

1.2.5 生物信息学分析 SOX13 相互作用蛋白: 采用 String 网站(<https://cn.string-db.org/>)预测 SOX13 相互作用蛋白, GEPIA 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)分析 SOX13 与 CTNNB1(β -catenin)在 EC 中表达的相关性。

1.2.6 免疫共沉淀(Co-IP)检测 SOX13 与 β -catenin 相互作用: 胰酶消化收集 Ishikawa 细胞, 加入蛋白裂解液, 获得细胞总蛋白。按照试剂盒说明书, 加入 SOX13 或抗 β -catenin 抗体及 Protein A 琼脂糖珠 100 μ l 来捕捉抗原抗体复合物, 在 4℃ 下旋转过夜, 离心后, 获得琼脂糖珠-抗原抗体复合物免疫复合物, 冷 PBS 洗涤 3 次后, 采用裂解缓冲液洗涤, 在 95℃ 下煮沸以洗脱结合的蛋白质, 然后进行蛋白质印迹。

1.2.7 免疫荧光实验检测 SOX13、 β -catenin 在细胞的定位: 将 Ishikawa 细胞接种在 24 孔板内的盖玻片上, 24 h 后, 采用冷 PBS 洗涤, 4% 多聚甲醛固定 30 min, 0.5% Triton X-100 试剂透化 10 min, 10% 山羊血清阻断细胞 1 h, 与 SOX13 和 β -catenin 抗体在 4℃ 下孵育过夜, 与荧光标记的二抗常温孵育 20 min, 4'-6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染料染核后, 将盖玻片置于载玻片上, 封片后采用激光扫描共聚焦显微镜观察并采集图像。

1.2.8 TOP/FOP Flash 荧光素酶报告基因实验检测 Wnt/ β -catenin 信号通路活性: 将 shNC 组、shSOX13 组、oeNC 组和 oeSOX13 组细胞(2×10^3 个细胞/孔)接种在 96 孔板内, 细胞贴壁后, 采用 lip2000 试剂将 TOP/FOP-Flash 质粒分别转染到各组细胞中, 放置在细胞培养箱中孵育 24 h 后, 采用荧光素酶报告基因检测试剂盒检测各组细胞的荧光素酶活性。

1.2.9 Western-blot 检测细胞中蛋白表达: 采用 PARP 蛋白裂解缓冲液收集待检测细胞总蛋白,采用细胞核蛋白提取试剂盒提取待检测细胞中的核蛋白,并采用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒检测细胞浓度。通过 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺(SDS-PAGE) 凝胶电泳分离蛋白,并将其湿转移到聚偏二氟乙烯(PVDF) 膜上。在室温下用 3%脱脂牛奶处理 PVDF 膜 30 min 后,将膜与待检测蛋白的一抗稀释液在 4℃ 下孵育一夜。用 TBST 洗 3 次后,与二抗稀释液常温一起孵育 1 h, TBST 洗 3 次后,用 ECL 发光试剂盒检测蛋白质条带,应用 ImageJ 软件 v 1.8.0 对蛋白质水平进行定量分析。

1.3 统计学方法 采用 GraphPad Prism 6.0 软件进行分析并绘制统计图。计数资料以频数或构成比(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用 F 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SOX13 蛋白在 EC 组织中的表达 SOX13 蛋白阳性表达定位在细胞核,见图 1。EC 患者癌组织 SOX13 蛋白阳性表达率为 51.25%(41/80) ,高于癌旁组织的 31.25%(25/80) ,差异有统计学意义($\chi^2/P=6.602/0.010$) 。

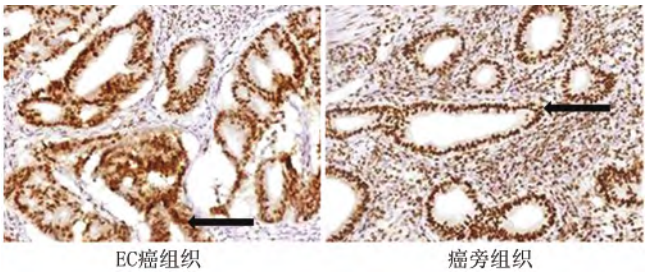


图 1 EC 患者癌组织与癌旁组织中 SOX13 蛋白阳性表达比较 (IHC 染色 $\times 200$)

Fig.1 Positive expression of SOX13 protein in EC cancerous tissue and adjacent non-cancerous tissue (IHC staining , $\times 200$)

2.2 SOX13 蛋白表达水平在 EC 患者不同临床/病理参数中的差异比较 淋巴脉管间隙浸润(LVSI) 、淋巴结转移、FIGO 分期 III ~ IV 期的 EC 患者中 SOX13 蛋白阳性表达率升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$) ,见表 1。

2.3 SOX13 蛋白表达水平对 EC 患者预后的影响 EC 患者 80 例中死亡 35 例,无删失病例,其中 SOX13 阳性表达组 EC 患者 5 年死亡率为 56.10%(23/41) ,SOX13 阴性表达 EC 患者 5 年死亡率为 30.77%(12/39) 。

表 1 SOX13 蛋白表达水平在 EC 患者不同临床/病理参数中的差异比较 [例(%)]

Tab.1 Comparison of SOX13 protein expression levels in EC patients with different clinical/pathological parameters

项 目	例数	SOX13 蛋白 阳性($n=41$)	χ^2 值	P 值
年龄	<50 岁	19 8(42.11)	0.834	0.361
	≥ 50 岁	61 33(54.10)		
肿瘤大小	<4 cm	53 24(45.28)	2.238	0.135
	≥ 4 cm	27 17(62.96)		
组织学类型	子宫内膜样癌	63 31(49.21)	0.496	0.481
	非子宫内膜样癌	17 10(58.82)		
FIGO 分级	低级	56 26(46.43)	1.737	0.188
	高级	24 15(62.50)		
LVSI	有	18 13(72.22)	4.089	0.043
	无	62 28(45.16)		
淋巴结转移	有	21 15(71.43)	4.641	0.031
	无	59 26(44.07)		
肌层浸润	<1/2	45 20(44.44)	1.907	0.167
	$\geq 1/2$	35 21(60.00)		
FIGO 分期	0 ~ II 期	58 24(41.38)	8.225	0.004
	III ~ IV 期	22 17(77.27)		

Kaplan-Meier 生存曲线统计分析显示,与 SOX13 阴性表达组 EC 患者比较,SOX13 阳性表达组 EC 患者预后较差($\chi^2/P=5.164/0.023$) ,见图 2。

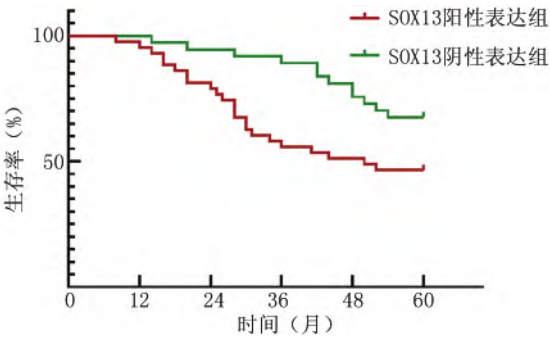


图 2 SOX13 蛋白表达对 EC 患者预后的影响

Fig.2 The effect of SOX13 protein expression on the prognosis of EC patients

2.4 SOX13 蛋白在 EC 细胞中表达比较 hEECs、AN3 CA、HEC-1-A、HEC-1-B、RL95-2、Ishikawa 细胞中 SOX13 蛋白表达分别为 0.077 ± 0.015 、 0.430 ± 0.030 、 0.357 ± 0.021 、 1.090 ± 0.056 、 0.950 ± 0.031 、 1.240 ± 0.053 ,与 hEECs 比较,人子宫内膜癌细胞系 AN3 CA、HEC-1-A、HEC-1-B、RL95-2、Ishikawa 的 SOX13 蛋白表达均增加 ($t=18.180$ 、 18.780 、 30.400 、 44.120 、 36.590 , P 均 <0.001) ,其中在 Ishikawa 细胞中表达最高,在 HEC-1-A 细胞中表达最低;采用 SOX13 敲减慢病毒转染

Ishikawa 细胞, Western-blot 结果显示, 与 shNC 组 (0.570 ± 0.361) 比较, shSOX13 组 (0.247 ± 0.042) Ishikawa 细胞中 SOX13 蛋白表达降低 ($t = 10.170$, $P < 0.001$); 采用 SOX13 过表达慢病毒转染 HEC-1-A 细胞, 与 oeNC 组 (0.460 ± 0.026) 比较, oeSOX13 组 (0.917 ± 0.015) HEC-1-A 细胞中 SOX13 蛋白表达升高 ($t = 25.320$, $P < 0.001$)。

2.5 SOX13 蛋白表达对 EC 细胞增殖和转移能力的影响 CCK8 实验显示, 与 shNC 组比较, shSOX13 组 Ishikawa 细胞增殖活性降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与 oeNC 组比较, oeSOX13 组 HEC-1-A 细胞增殖活性增加 ($P < 0.01$), 见表 2。平板克隆实验显示, 与 shNC 组 Ishikawa 细胞克隆形成数目比较, shSOX13 组 Ishikawa 细胞克隆形成数目降低 ($P < 0.01$); 与 oeNC 组比较, oeSOX13 组 HEC-1-A 细胞克隆形成数目增加 ($P < 0.01$)。Transwell 实验结果显示, 与 shNC 组比较, shSOX13 组 Ishikawa 细胞穿膜细胞数目降低 ($P < 0.01$); 与 oeNC 组比较, oeSOX13 组 HEC-1-A 细胞穿膜数目增加 ($P < 0.01$), 见表 3。

表 3 各组 Ishikawa、HEC-1-A 细胞克隆形成数目和穿膜数目比较 ($\bar{x} \pm s$, 个)

Tab.3 Comparison of the number of colony formation and cell penetration in Ishikawa and HEC-1-A cell lines across various groups

组别	n	细胞	克隆形成数目	细胞穿膜数目
shNC 组	5	Ishikawa	76.333 ± 2.517	66.333 ± 5.686
shSOX13 组	5		42.667 ± 2.082	17.667 ± 7.506
oeNC 组	5	HEC-1-A	72.667 ± 2.523	134.000 ± 8.889
oeSOX13 组	5		151.667 ± 4.163	300.000 ± 13.454
t/P shNC 组与 shSOX13 组组间值			$16.550 / < 0.001$	$9.442 / < 0.001$
t/P oeNC 组与 oeSOX13 组组间值			$28.130 / < 0.001$	$17.830 / < 0.001$

2.6 SOX13 蛋白与 β -catenin 蛋白的相互作用 String 网站预测显示 SOX13 蛋白与 CTNNB1 (β -catenin) 蛋白

存在相互作用, 见图 3A; GEPIA 数据库分析 SOX13 与 CTNNB1 (β -catenin) 在 EC 中的表达呈正相关性 ($r/P = 0.480 / < 0.001$), 见图 3B; 免疫荧光实验显示在 Ishikawa 内 SOX13 与 β -catenin 共定位在细胞核内, 见图 3C; Co-IP 实验显示在 Ishikawa 细胞内 SOX13 与 β -catenin 存在相互作用, 见图 3D。

2.7 SOX13 蛋白表达对 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响 荧光素酶报告基因实验显示, 与 shNC 组 (0.99 ± 0.02) 比较, shSOX13 组细胞中 TOP/FOP Flash 荧光素酶活性 (0.36 ± 0.90) 降低 ($t/P = 11.770 / < 0.001$); 与 oeNC 组 (0.99 ± 0.30) 比较, oeSOX13 组细胞中 TOP/FOP Flash 荧光素酶活性 (4.57 ± 0.28) 增加 ($t/P = 23.970 / < 0.001$)。

Western-blot 结果显示, 与 shNC 组比较, shSOX13 组细胞中核 β -catenin 蛋白及 cMyc、cyclinD1、N-cadherin 蛋白表达降低, E-cadherin 蛋白表达增加 ($P < 0.01$); 与 oeNC 组比较, oeSOX13 组细胞中核 β -catenin 蛋白及 cMyc、cyclinD1、N-cadherin 蛋白表达增加, E-cadherin 蛋白表达降低 ($P < 0.01$), 见图 4、表 4。

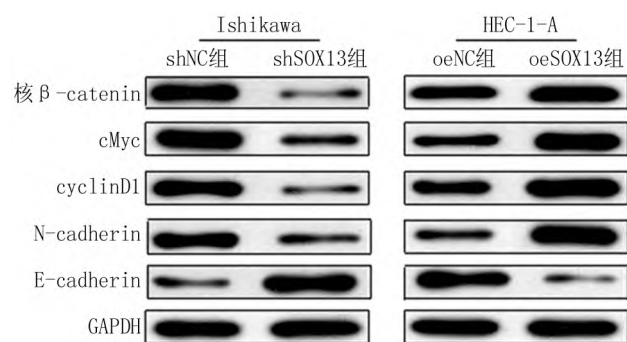


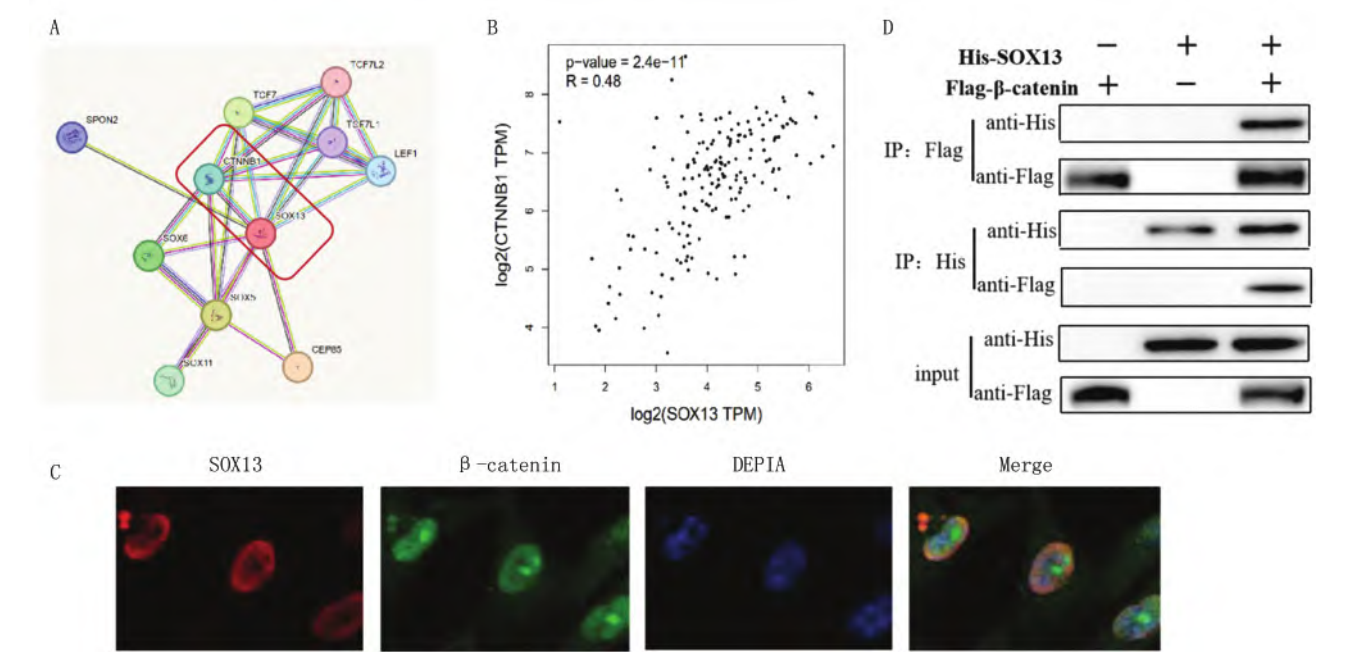
图 4 SOX13 蛋白表达对 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响

Fig.4 The impact of SOX13 protein expression on the Wnt/ β -catenin signaling pathway

表 2 各组不同时间 Ishikawa、HEC-1-A 细胞的 OD 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Comparison of cell OD values at different time points in each group

组别	n	细胞	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
shNC 组	5	Ishikawa	0.238 ± 0.006	0.359 ± 0.030	0.483 ± 0.036	0.660 ± 0.026	0.900 ± 0.036
shSOX13 组	5		0.234 ± 0.015	0.270 ± 0.010	0.347 ± 0.030	0.401 ± 0.027	0.478 ± 0.037
oeNC 组	5	HEC-1-A	0.277 ± 0.005	0.356 ± 0.032	0.467 ± 0.038	0.602 ± 0.033	0.814 ± 0.041
oeSOX13 组	5		0.274 ± 0.015	0.490 ± 0.031	0.644 ± 0.025	0.916 ± 0.029	1.053 ± 0.047
t/P shNC 组与 shSOX13 组组间值				$4.670 / 0.010$	$5.085 / 0.007$	$12.170 / < 0.001$	$15.640 / < 0.001$
t/P oeNC 组与 oeSOX13 组组间值				$5.252 / 0.006$	$6.731 / 0.003$	$13.580 / < 0.001$	$6.600 / 0.003$



注: A.String 网站预测 SOX13 蛋白与 β-catenin 蛋白存在相互作用; B.GEPIA 数据库分析 SOX13 与 β-catenin 在 EC 中的表达呈正相关性; C.免疫荧光实验显示在 Ishikawa 内 SOX13 与 β-catenin 共定位在细胞核内; D.Co-IP 实验显示在 Ishikawa 内 SOX13 与 β-catenin 存在相互作用。

图 3 SOX13 蛋白与 β-catenin 蛋白的相互作用

Fig.3 Interaction between SOX13 protein and β-catenin protein

表 4 Western-blot 实验检测 SOX13 蛋白对 Wnt/β-catenin 信号通路的影响 (x±s)

Tab.4 Western-blot experiment to detect the effect of SOX13 protein on the Wnt/β-catenin signaling pathway

组 别	n	细胞	核 β-catenin	cMyc	cyclinD1	N-cadherin	E-cadherin
shNC 组	3	Ishikawa	1.217±0.042	1.324±0.041	0.963±0.049	0.874±0.054	0.173±0.015
shSOX13 组	3		0.137±0.031	0.295±0.025	0.220±0.026	0.271±0.021	1.023±0.051
oeNC 组	3	HEC-1-A	0.621±0.036	0.473±0.032	0.549±0.031	0.384±0.032	0.976±0.045
oeSOX13 组	3		1.090±0.036	1.230±0.035	1.280±0.032	1.220±0.035	0.131±0.022
t/P shNC 组与 shSOX13 组组间值			41.830/<0.001	37.200/<0.001	23.000/<0.001	21.620/<0.001	26.840/<0.001
t/P oeNC 组与 oeSOX13 组组间值			16.620/<0.001	27.650/<0.001	31.140/<0.001	30.000/<0.001	29.440/<0.001

3 讨 论

EC 是更年期和围绝经期妇女常见的生殖系统恶性肿瘤之一,近年来 EC 的发病率在发达国家和发展中国家都在增加,严重威胁着全球女性的生命健康^[1]。尽管 EC 患者通常在早期被诊断,预后良好,但一些患者在确诊时已发生转移,而一旦进展到 EC 晚期或复发,患者预后较差,5 年总生存率约为 17%^[2]。这凸显了寻找用于早期检测、预测预后、指导个性化治疗的具有敏感和特异性标志物的重要性。与 EC 风险相关的已知因素包括肥胖、糖尿病、初潮年龄和口服避孕药等,此外,遗传因素包括林奇综合征、Cowden 综合征等也是 EC 的危险因素^[9-10]。研究显示 EC 的发生和发展是环境因素和遗传变异相互作用的结果,涉及一系列改变,如各种基因和转录因子的差异表达、细胞

信号转导通路的异常调节和细胞微环境稳态的失衡,但是目前调控 EC 发生、发展和转移的分子机制尚未完全阐明,因此研究 EC 恶性进展过程中发挥重要作用的分子对寻求 EC 治疗潜在靶点具有重要意义^[11]。

性别决定区 Y 相关的高迁移率组蛋白(SOX)是一组在胚胎发育、细胞命运决定等生物过程中发挥关键作用的转录因子,迄今为止,在所有脊椎动物中已发现了 SOX 家族的 20 多个成员。越来越多的证据表明,SOX 蛋白家族在维持细胞干性表型、肿瘤发生和转移中起着重要的作用^[12]。其中 SOX13 与 SOX5 和 SOX6 均属于 SOX 基因亚家族的 D 组(SOXD)^[13]。新近研究表明,SOXD 家族在肿瘤发生和转移中发挥关键作用,SOX5 和 SOX6 基因作为致癌基因或抑癌基因,在不同类型肿瘤中通过调节不同的靶基因,参与肿

瘤的发展过程^[14-15]。然而,SOX13 的研究不如 SOX5 和 SOX6 广泛。近期研究显示 SOX13 在肿瘤的发生发展中发挥重要作用,在乳腺癌中 SOX13 表达升高,并存在 SOX13 基因突变和扩增,SOX13 高表达的患者生存率较差,可独立地作为乳腺癌患者预后差的指标^[4,16]。SOX13 在肝细胞肝癌干细胞球中表达上调,参与肿瘤细胞的干细胞样特性形成,促进肿瘤细胞增殖和致瘤性,以及降低肿瘤细胞对药物治疗的敏感性,SOX13 在乳腺癌和肝细胞肝癌等肿瘤中均发挥促癌基因的作用^[4,16]。但是 Ma 等^[17]报道 SOX13 在甲状腺癌中表达降低,并与病理分期、组织学分级和原发性肿瘤病灶类型相关,独立预测患者预后不良,过表达 SOX13 通过调节铁死亡,抑制肿瘤细胞存活率,从而导致肿瘤细胞增殖、迁移和转移能力降低,发挥抑癌基因的作用。因此 SOX13 具有双面性,在不同的肿瘤中可能发挥相反的作用,SOX13 在 EC 中的表达水平及作用尚未见报道。本研究结果显示 SOX13 在 EC 中可能发挥促癌作用,与 SOX13 在乳腺癌和肝细胞肝癌等肿瘤中的研究报道一致。同时生存分析显示 SOX13 阳性表达的 EC 患者预后较差,表明 SOX13 可作为监测 EC 患者生存预后的生物学标志物。

本研究中细胞生物学功能实验显示 SOX13 促进 EC 细胞增殖和转移能力,进一步表明 SOX13 在 EC 恶性进展中发挥促进作用,其发挥的具体作用机制需深入探讨。研究报道在未分化甲状腺癌中,SOX13 通过与 TRIM11 的启动子结合来激活 TRIM11 的转录促进 YAP 的单泛素化,促使肿瘤细胞增殖、转移和化疗耐药^[5]。此外,在乳腺癌中 SOX13 依赖于 TRIM11 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路促进肿瘤细胞增殖和糖酵解,提示 TRIM11 是 SOX13 发挥促癌作用的重要作用中介^[7]。为了探索 SOX13 发挥作用的其他分子机制,本研究采用 String 网站预测发现 β -catenin 是与 SOX13 相互作用的蛋白之一, β -catenin 是 Wnt/ β -catenin 信号通路激活的关键蛋白,在正常条件下, β -catenin 蛋白被破坏复合物泛素化降解,在接收到外界信号刺激下,破坏复合物被分解,导致 β -catenin 蛋白在细胞质中累积,并异位至细胞核内,促进 TCF/LEF(T 细胞因子/淋巴增强因子)转录因子激活 Wnt/ β -catenin 信号通路诱导后续细胞反应^[18-19]。Wnt/ β -catenin 信号通路的激活同样促使 EC 的发生发展,可作为抗 EC 治疗的靶标。采用 GEPIA 数据库分析发现 SOX13 与 CTNNB1(β -catenin)在 EC 中的表达呈正相关,提示 SOX13 可能通过与 β -catenin 相互作用激活 Wnt/ β -catenin 信号通路促进 EC 细胞增殖和转移能力。进一步功能实验

显示 SOX13 与 β -catenin 相互作用,并共定位于细胞核内,SOX13 促进 Wnt/ β -catenin 信号通路转录活性,并增加细胞核中 β -catenin 蛋白的表达和其下游增殖相关蛋白 cMyc、cyclinD1 表达,增加其下游促进转移 EMT 相关蛋白 N-cadherin 表达,降低抑制转移 EMT 相关蛋白 E-cadherin 表达^[20-23]。表明 SOX13 通过与 β -catenin 蛋白相互作用,促使 β -catenin 入核激活 Wnt/ β -catenin 信号通路促进 EC 恶性进展。

4 结 论

综上所述,本研究发现 SOX13 在 EC 中表达显著上调,并且 SOX13 表达上调与患者淋巴结转移、LVSI、FIGO 分期晚期和不良预后相关,SOX13 可作为预测 EC 患者预后的潜在分子标志物。在细胞功能方面验证了 SOX13 促进 EC 细胞增殖和转移能力。在分子机制上,采用生物学信息分析及 CO-IP 蛋白相互作用实验,证实 SOX13 与 β -catenin 蛋白相互作用,并促进 β -catenin 蛋白在细胞核内的表达,激活 Wnt/ β -catenin 信号通路活性及其下游靶基因 cMyc、cyclinD1、N-cadherin 蛋白的表达,阐明了 SOX13 通过与 β -catenin 相互作用激活 Wnt/ β -catenin 信号通路活性促进 EC 恶性进展的分子机制。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

董雪:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;乔娟:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;斯琴:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;郑菲:进行统计学分析

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, et al. Cancer statistics, 2023 [J]. CA Cancer J Clin, 2023, 73(1): 17-48. DOI: 10.3322/caac.21763.
- [2] Tronconi F, Nero C, Giudice E, et al. Advanced and recurrent endometrial cancer: State of the art and future perspectives [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2022, 180: 103851. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2022.103851.
- [3] Demos C, Johnson J, Andueza A, et al. Sox13 is a novel flow-sensitive transcription factor that prevents inflammation by repressing chemokine expression in endothelial cells [J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 979745. DOI: 10.3389/fcvm.2022.979745.
- [4] Gao T, Jiang B, Zhou Y, et al. SOX13 is a novel prognostic biomarker and associates with immune infiltration in breast cancer [J]. Front Immunol, 2024, 15: 1369892. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1369892.
- [5] Tang J, Tian Z, Liao X, et al. SOX13/TRIM11/YAP axis promotes the proliferation, migration and chemoresistance of anaplastic thyroid cancer [J]. Int J Biol Sci, 2021, 17(2): 417-429. DOI: 10.7150/ijbs.54194.
- [6] Jiao H, Fang F, Fang T, et al. SOX13 regulates cancer stem-like properties and tumorigenicity in hepatocellular carcinoma cells [J]. Am J Cancer Res, 2021, 11(3): 760-772.

- [7] Jin X , Shao X , Pang W , et al. Sex-determining region Y-box transcription factor 13 promotes breast cancer cell proliferation and glycolysis by activating the tripartite motif containing 11-mediated Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Bioengineered , 2022 , 13 (5) : 13033-13044. DOI: 10.1080/21655979.
- [8] 李育林 赵紫嫣. ERR α 通过 DKK1-Wnt/ β -catenin 信号通路促进子宫内膜癌进展[J]. 中国老年学杂志 , 2024 , 44(23) : 5829-5835. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2024.23.044.
- [9] Lei M , Adambekov S , Edwards RP , et al. Endometrial cancer risk factors in Singapore Chinese: A prospective cohort study [J]. Ann Epidemiol , 2022 , 71: 9-14. DOI: 10.1016/j.annepidem.
- [10] 赵伟. 子宫内膜癌分子分型的研究进展[J]. 医学理论与实践 , 2024 , 37(20) : 3451-3453 , 3456. DOI: 10.19381/j.issn.1001-7585.2024.20.008.
- [11] 王嵘嵘, 程开芳, 陈君墨, 等. 子宫内膜癌组织中 LncRNA GATA3-AS1、miR-362-3p 表达与病理参数和预后的关系[J]. 疑难病杂志 , 2024 , 23(10) : 1193-1197 , 1209. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.10.008.
- [12] Jiang J , Wang Y , Sun M , et al. SOX on tumors , a comfort or a constrain? [J]. Cell Death Discov , 2024 , 10(1) : 67. DOI: 10.1038/s41420-024-01834-6.
- [13] Diawara M , Martin LJ. Regulatory mechanisms of SoxD transcription factors and their influences on male fertility[J]. Reprod Biol , 2023 , 23(4) : 100823. DOI: 10.1016/j.repbio.2023.100823.
- [14] Ghosh M , Kang MS , Katuwal NB , et al. SOX5 inhibition overcomes PARP inhibitor resistance in BRCA-mutated breast and ovarian cancer[J]. Cell Death Dis , 2025 , 16(1) : 333. DOI: 10.1038/s41419-025-07660-7.
- [15] Li Y , Jiang D , Zhang Q , et al. Clinical implications and genetical insights of SOX6 expression in acute myeloid leukemia[J]. J Cancer Res Clin Oncol , 2023 , 149(8) : 4443-4453. DOI: 10.1007/s00432-022-04349-8.
- [16] 雷霖, 周伟晔, 钱玥, 等. SOX13 生物学功能及在癌症发生中作用机理的研究进展[J]. 医学信息 , 2026 , 39(1) : 27-31. DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2026.01.004.
- [17] Ma YY , Zhou WY , Qian Y , et al. SOX13 as a potential prognostic biomarker linked to immune infiltration and ferroptosis inhibits the proliferation , migration , and metastasis of thyroid cancer cells[J]. Front Immunol , 2024 , 15: 1478395. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1478395.
- [18] Liu J , Xiao Q , Xiao J , et al. Wnt/ β -catenin signalling: Function , biological mechanisms , and therapeutic opportunities [J]. Signal Transduct Target Ther , 2022 , 7(1) : 3. DOI: 10.1038/s41392-021-00762-6.
- [19] Zhang X , Dong N , Hu X. Wnt/ β -catenin signaling inhibitors [J]. Curr Top Med Chem , 2023 , 23(10) : 880-896. DOI: 10.2174/1568026623666230303101810.
- [20] Kapoor S , Padwad YS. Phloretin induces G2/M arrest and apoptosis by suppressing the β -catenin signaling pathway in colorectal carcinoma cells[J]. Apoptosis , 2023 , 28(5-6) : 810-829. DOI: 10.1007/s10495-023-01826-4.
- [21] 郭阳 张凤格 朱丹, 等. 子宫内膜癌中 NLR5、NSUN2 表达及临床预后价值分析[J]. 疑难病杂志 , 2025 , 24(6) : 693-698. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2025.06.011.
- [22] 周维 李广莹, 曲长红, 等. 血清 CA199、HE4、PTEN 联合检测对子宫内膜癌病情及预后的评估价值[J]. 临床误诊误治 , 2022 , 35(3) : 54-58. DOI: 10.3969/j.issn.1002-3429.2022.03.013.
- [23] Zhang L , Chen J , Chen Y , et al. Alantolactone inhibits melanoma cell culture viability and migration and promotes apoptosis by inhibiting Wnt/ β -Catenin signaling [J]. Anticancer Agents Med Chem , 2023 , 23(1) : 94-104. DOI: 10.2174/1871520622666220519100054.

(收稿日期: 2025-11-30)

作者 · 编者 · 读者

关于不法人员冒充《疑难病杂志》编辑部进行论文核查的紧急声明

近日 , 接到不少作者来电来信 , 反映有人借落实《学术出版规范 期刊学术不端行为界定》标准、规范期刊管理之机 , 以《疑难病杂志》编辑部之名 , 冒充我刊人员联系近期在本刊刊载过论文的作者 , 限期提交论文基础研究支撑材料 , 含原始数据、研究概况说明与合规等相关文件材料。此为虚假信息 , 希望广大作者提高警惕 , 严防上当受骗。为此 , 疑难病杂志社紧急声明如下:

1. 本刊从未设置备用联系邮箱 , 也无任何工作微信号 , 也未委托任何个人、机构进行上述相关工作。
2. 本刊对论文在审稿时发现缺少伦理证明或质疑研究数据时 , 即在审稿期间以退修形式要求作者完善数据和补充伦理证明 , 出版后不再索要。
3. 如发现有人向作者限期索要相关材料 , 千万不要提供 , 应及时与编辑部联系 , 唯一电话: 0311-85901735 , 唯一邮箱: ynbzz@163.com。
4. 本刊对欺骗作者的事件 , 一经发现即报案处理。

疑难病杂志社